

ÉTUDES IN SILICO ET IN VITRO DES POLYGALACTURONASES DE *MONILIOPHTHORA PERNICIOSA*

Carvalho, H.A.S.¹; Ribeiro, L.F.¹; Santos, S.C.¹; Pirovani, C.P.¹; Gesteira, A.S.¹; Micheli, F.^{1,2}

¹CBG, UESC, BA, Brésil,

²Cirad, UMR AGAP, France

RESUME

Les pectinases constituent un groupe d'enzymes qui se dégradent en substances pectiques, hydrolysant les liaisons glycosidiques tout au long de la chaîne carbonée. Elles sont produites par les plantes, les champignons filamenteux, les bactéries et les levures. Ces enzymes ont un rôle important : i) dans la physiologie végétale, ii) dans les microorganismes pathogènes agissant comme un facteur de virulence pendant l'infection de la plante ; iii) dans les industries agro-alimentaire, du textile et du papier. Des gènes homologues des polygalacturonases (PG, EC 3.2.1) ont été identifiés dans la base de données génomique du champignon *Moniliophthora perniciosa*, l'agent pathogène de la maladie des balais de sorcières du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Nous avons réalisé une caractérisation *in silico* des gènes de polygalacturonase (PG) de *M. perniciosa* et nous avons évalué leur expression dans le champignon cultivé dans un système artificiel (cookies) ainsi que dans un milieu de culture contenant différentes sources de carbone. Trois gènes PG ont été identifiés (PG1, PG2, PG3) et caractérisés *in silico* par analyse de séquence, alignement de séquence, construction de cladogramme et conception d'amorces pour l'étude de l'expression des gènes par PCR en temps réel (RT-qPCR), en utilisant différents logiciels. Pendant la croissance de l'agent pathogène sur les cookies, quatre étapes de développement ont été observées en fonction de la couleur du mycélium (blanc, jaune, rose clair et rose foncé). L'analyse par RT-qPCR a montré que l'expression était supérieure dans la phase jaune, suivie par la phase rose foncé et la phase rose clair, respectivement, pour les trois gènes PG. L'expression des gènes a aussi été analysée sur l'agent pathogène cultivé dans un milieu liquide contenant différentes sources de carbone (D-glucose, D-galactose, D-mannose, D-mannitol, D-sucrose, D-fructose et glycérol). Dans cette étude, nous avons observé que le gène PG2, suivis par le gène PG1, étaient ceux avec l'expression la plus élevée quand le champignon était cultivé dans un milieu contenant du D-mannose. Quand le champignon a été cultivé dans du D-galactose, les trois gènes étudiés ont présenté une expression significative, PG3 obtenant l'expression la plus élevée et PG2 la plus faible. Dans le D-mannitol, seul le gène PG2 a présenté une expression, les autres gènes ont été réprimés. Dans le D-sucrose, les gènes PG1 et PG2 ont montré une faible expression, et dans le D-fructose et le glycérol, nous avons observé une répression de tous les gènes étudiés. Nous pensons que cette étude peut servir à l'élaboration de différentes stratégies de lutte contre la maladie et également à une production à grande échelle de pectinase destinée à être utilisée dans le secteur des biotechnologies.

Mots-clés : pectinases, maladie des balais de sorcière, biotechnologie